



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA – FEF
BACHARELADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

**ERITROPOIETINA NA ATIVIDADE FÍSICA: UMA REVISÃO COM ÊNFASE
NA DOPAGEM GENÉTICA.**

Fernanda Mônica Barbosa dos Santos

BRASÍLIA, DF
2019

FERNANDA MÔNICA BARBOSA DOS SANTOS

**ERITROPOIETINA NA ATIVIDADE FÍSICA: UMA REVISÃO COM ÊNFASE
NA DOPAGEM GENÉTICA.**

Trabalho de conclusão de curso,
apresentado em formato de artigo
científico à Universidade de Brasília
(UnB) como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Bacharelado
em Educação Física.

Orientadora: Luciana Hagström

BRASÍLIA, DF

2019

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília, em especial minha orientadora, professora Luciana Hagström, pelo apoio, paciência e orientação, que me ajudou a desenvolver e finalizar esse trabalho.

Aos meus pais que me apoiaram nessa nova jornada que escolhi viver. À minha irmã, que me ajudou com as traduções dos artigos em idiomas estrangeiros, e me apoio durante toda essa jornada.

À minha família, principalmente à minha prima Silvia, que desde o primeiro momento que soube que eu voltaria para a faculdade para começar do zero mais uma graduação, não escondeu seu entusiasmo e vem me apoiando desde então.

Aos colegas de faculdade, que me acompanharam por todos esses semestres, com trocas de conhecimentos e de momentos de descontração e muitos de estudo.

RESUMO

A eritropoietina (EPO) é uma glicoproteína produzida pelo rim e sua produção é estimulada por hipóxia. Sua principal função é regular a eritropoiese, aumentando assim a formação de eritrócitos maduros a partir das células progenitoras eritróides na medula óssea. A forma sintética da EPO, a Eritropoietina Recombinante Humana (rhEPO) está disponível comercialmente desde o final da década de 80. Além da sua utilização na clínica médica, ela passou a ser usada como instrumento de dopagem por atletas desejando melhorar o rendimento esportivo através da maior produção de eritrócitos o que permite um melhor transporte de oxigênio. Com o avanço da tecnologia, passou-se a utilizar a terapia gênica como instrumento de dopagem genética. O gene da EPO é um dos candidatos alvo e acredita-se que ele já vem sendo utilizado no meio esportivo. A Agência Mundial Anti-dopagem (WADA, do inglês *World Anti-Doping Agency*) já proíbe a dopagem genética e estimula pesquisas que melhorem a detecção não só das substâncias proibidas, mas também dos métodos utilizando a terapia gênica. Os riscos do aumento da síntese de EPO no organismo, seja através de injeções da forma sintética, seja através da introdução do gene da EPO no corpo, envolvem sobrecarga cardiovascular. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sobre o uso da EPO no esporte, com ênfase na dopagem genética. Esse estudo se justifica, pois além dos perigos para a saúde dos atletas, a dopagem com a EPO vai contra os princípios competitivos justos éticos.

PALAVRAS-CHAVE: Eritropoietina, eritropoiese, eritropoietina recombinante humana, esporte, *doping*, dopagem, terapia gênica e *doping* genético; esporte.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mecanismo de produção da eritropoietina (MARIEB, 2004).
- Figura 2.** Funções da eritropoietina (RÖLFING, 2014).
- Figura 3.** Formação de diferentes elementos figurados sanguíneos a partir da célula-tronco pluripotente na medula óssea (GUYTON & HALL, 2015).
- Figura 4.** Substâncias mais encontradas pela Agência Mundial Anti-Dopagem nos exames de atletas (WADA, 2014).

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCD	Associação Brasileira de Controle de Dopagem
BFU-E	<i>Burst-forming unit - erythroid</i> (Unidade formadora de “explosão” eritrocitária)
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
cDNA	DNA complementar
CFU-E	<i>Colony forming unit – erythroid</i> (Unidade formadora de colônia)
CFU-GEMM	Unidade formadora de colônias de granulócitos, eritrócitos, megacariócitos e macrófagos
COI	Comitê Olímpico Internacional
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EAA	Esteroides anabolizantes androgênicos
EAR	Esporte de Alto Rendimento
EPO	Eritropoietina
EPOr	Receptor de Eritropoietina
ERTBO	Eritroblasto ortocromático
ERTBP	Eritroblasto policromatófilo
GDF-8	<i>Growth differentiation factor 8</i> (Bloqueadores de miostatina)
HIF-1	<i>Hypoxia-inducible factor 1</i> (Fator induzível por hipóxia- 1)
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HRE	Elemento responsivo à hipóxia
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor-1</i> (Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1)
IL-3	Interleucina-3
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
mRNA	RNA mensageiro
O ₂	Oxigênio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PERTB	Proeritroblasto
RBC	<i>Red blood cells</i> (eritrócitos)
rhEPO	Eritropoietina Recombinante Humana
SCIELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>

VEGF *Vascular endothelial growth factor* (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

WADA *World Anti-Doping Agency* (Agencia Mundial Anti-Dopagem)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	08
2.	OBJETIVOS	
2.1	Gerais.....	09
2.2	Específicos.....	09
3.	METODOLOGIA.....	09
4.	DESENVOLVIMENTO	
4.1	Eritropoietina.....	10
4.2	Eritropoiese.....	12
4.3	Eritropoietina recombinante humana.....	15
4.4	Dopagem no esporte.....	16
4.4.1	Eritropoietina e dopagem no esporte.....	19
4.5	Terapia gênica e dopagem genética.....	22
4.6	Métodos de detecção da dopagem genética com eritropoietina.....	24
4.7	Riscos da dopagem genética com eritropoietina.....	27
5.	CONCLUSÃO.....	28
6.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

A eritropoietina (EPO) é uma glicoproteína produzida principalmente pelo rim e sua produção é estimulada por hipóxia, baixa concentração de oxigênio. Sua função principal é regular a eritropoiese, mas diversos estudos mostram outras ações deste hormônio, que atua também como fator neuroprotetor, cardioprotetor, entre outros (NASCIMENTO *et al.*, 2013). Devido sua importância para o organismo, foi desenvolvido a eritropoietina recombinante humana (rhEPO).

Seu potencial em estimular a eritropoiese, aumentando assim a capacidade do organismo em transportar oxigênio (O₂) permitindo um melhor rendimento em exercícios de *endurance* (JOKL *et al.*, 1969; EKBLÖM *et al.*, 1972) fez com que a EPO começasse a ser utilizada indevidamente por atletas. De fato, alguns esportistas procuram métodos ilícitos ou proibidos para alcançar a vitória a qualquer preço (SILVA e RUBIO, 2003).

A dopagem é o uso de substâncias ou métodos capazes de aumentar artificialmente o rendimento esportivo indo contra a saúde do atleta e contra a ideia de "jogo limpo" (WADA, 2009). Entre as substâncias proibidas pela Agência Mundial Antidopagem (WADA, do inglês *World Anti-Doping Agency*) estão a EPO. O uso de terapia gênica, conjunto de métodos que permite a inserção de genes sadios para substituir ou suplementar genes inativos (LINDEN, 2010) para melhorar o desempenho atlético também está proibido por esta agência (WADA, 2009). Um dos genes alvo candidato para a dopagem genética – utilização não terapêutica de genes para melhora do desempenho esportivo (WADA, 2003) é o gene da EPO que quando inserido no organismo permite maior expressão da proteína endógena.

O aumento artificial da EPO circulante, seja através da administração de rhEPO, seja através de terapia gênica, acarreta diversos efeitos colaterais em decorrência do grande aumento no número de eritrócitos (policitemia), todos culminando na sobrecarga do sistema cardiovascular. Há diferentes métodos de detecção de dopagem, os diretos, capazes de identificar o uso da rhEPO e os indiretos, baseados no aumento do hematócrito. A dopagem genética ainda é muito difícil de ser identificada pelos exames antidopagem convencionais. Desta forma, talvez a ação mais eficiente seja a prevenção da dopagem

através da conscientização dos atletas quanto aos seus riscos, além da questão ética envolvida (MACEDO *et al.*, 2015; ARTIOLI, *et al.*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 GERAIS

O presente trabalho é uma revisão de literatura com o objetivo de discutir o uso da eritropoietina na área esportiva como meio de melhorar o desempenho, com ênfase em seu uso como instrumento para a dopagem genética. Além disso, visa compreender os riscos desta prática que transgride o princípio de igualdade entre os atletas.

2.2 ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos são:

- Apresentar os benefícios esportivos advindos do uso da EPO exógena, assim como os riscos para a saúde dos atletas;
- Caracterizar a dopagem genética e a terapia gênica e os possíveis meios de realização e, principalmente, de detecção.
- Evidenciar a terapia gênica envolvendo o gene responsável pela produção da eritropoietina.
- Descrever os riscos associados à manipulação gênica.

3. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica a fim de sintetizar os resultados dos estudos relacionados à utilização da EPO no esporte, com ênfase em seu uso em dopagens genéticas. A pesquisa foi realizada no 1º semestre de 2019 nas bases de dados *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), Google Acadêmico e o portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). As palavras-chaves utilizadas foram: eritropoietina,

eritropoiese, eritropoietina recombinante humana, esporte, *doping*, dopagem, terapia gênica e *doping* genético; esporte.

Os critérios de seleção foram: artigos, trabalhos de conclusão de curso, dissertações e teses em português, espanhol ou inglês portando sobre o tema. Os resumos selecionados foram lidos para determinar se entrariam ou não no trabalho. Os trabalhos selecionados foram em seguida lidos na íntegra para escrita da revisão.

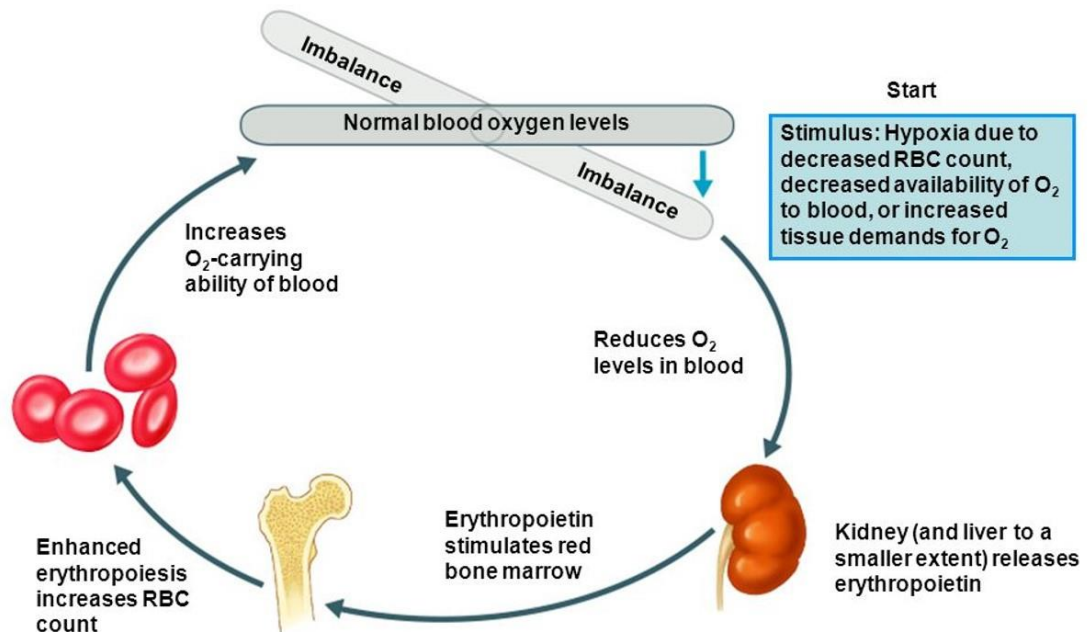
4. DESENVOLVIMENTO

4.1. ERITROPOIETINA

Em 1906, Carnot e Deflandre denominaram a hemopoietina, ou eritropoietina, como um fator de regulação da eritropoiese, produzida em resposta à anemia. Tal ideia, entretanto, não foi completamente aceita no meio científico devido à ausência de comprovação experimental. As pesquisas continuaram e, mais tarde, foi demonstrado que esse fator humoral de regulação da formação de células sanguíneas vermelhas realmente existia e estava presente em altos níveis no plasma e na urina do indivíduo anêmico sendo, ao final, denominado eritropoietina (EPO) (SANTANA, 2017).

A EPO é um hormônio peptídico, produzido endogenamente, sintetizada a partir de um gene situado no braço longo do cromossomo 7 e está envolvida na proliferação e diferenciação dos eritrócitos (também chamados de hemácias ou glóbulos ou células vermelhas) e na manutenção de seus níveis fisiológicos (PARDOS *et al.*, 1999; ROCHA e BRAIBANTE, 2016; SURIOL, 2018). A EPO é secretada essencialmente pelas células peritubulares, semelhantes a fibroblastos, do interstício do córtex renal (aproximadamente 95%) e também, em menor quantidade, por células hepáticas (cerca de 5% da quantidade total) (NASCIMENTO *et al.*, 2013). Sua produção é regulada por um sistema de retroalimentação, onde os sensores renais detectam a diminuição de oxigênio (O₂) e, neste caso, secretam a EPO no sangue. Desta forma, a EPO será secretada sempre que houver queda de pressão parcial de O₂ (como é o caso de pessoas expostas a altas altitudes), diminuição da concentração de eritrócitos causada por anemias, hemorragias ou destruição excessiva, assim como o aumento da necessidade de O₂ pelos tecidos (por exemplo, em

situação de exercício intenso) (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2011) (Figura 1).



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figura 1. Mecanismo de produção da eritropoietina (MARIEB, 2004). A diminuição do nível de oxigênio (O_2) no sangue é percebida pelo rim e em pequena parte pelo fígado que liberam a EPO na circulação. Ela estimula a eritropoiese na medula óssea marrom. A elevação no número de eritrócitos (RBC, do inglês *red blood cells*) permite o aumento do transporte O_2 pelo sangue. Quando este volta aos níveis normais, os rins e fígado deixam de ser estimulados a secretar EPO. Este ciclo é iniciado graças a diversos estímulos: hipóxia devido à diminuição do número de eritrócitos, diminuição da disponibilidade de O_2 no sangue ou aumento da demanda de O_2 pelos tecidos.

A hipóxia (menor oferta de O_2 circulante) do tecido renal leva ao aumento dos níveis teciduais do fator induzível por hipóxia-1 (HIF-1, do inglês *hypoxia-inducible factor 1*), que serve como fator de transcrição para um grande número de genes induzíveis por hipóxia, incluindo o da EPO. O HIF-1 se liga ao elemento de resposta a hipóxia, residente no gene da EPO, induzindo a transcrição do RNA mensageiro (mRNA) aumentando, assim, a síntese da EPO (GUYTON & HALL, p. 440, 2011). As moléculas de EPO produzidas, carregadas pela corrente sanguínea, são conduzidas até a medula óssea, onde encontram células progenitoras eritrocitárias, estimulando assim

sua diferenciação em eritrócitos (BENTO *et al.*, 2003; e NASCIMENTO *et al.*, 2013).

A partir da observação de que a EPO e seu receptor (EPOr) estão presentes em diversas células e órgãos, foi sugerido que suas funções vão além da eritropoiese. Foi mostrado, por exemplo, que a EPO tem ação neuroprotetora e cardioprotetora (RICKSEN *et al.*, 2008). A Figura 2 ilustra as diversas funções desempenhadas pela EPO.

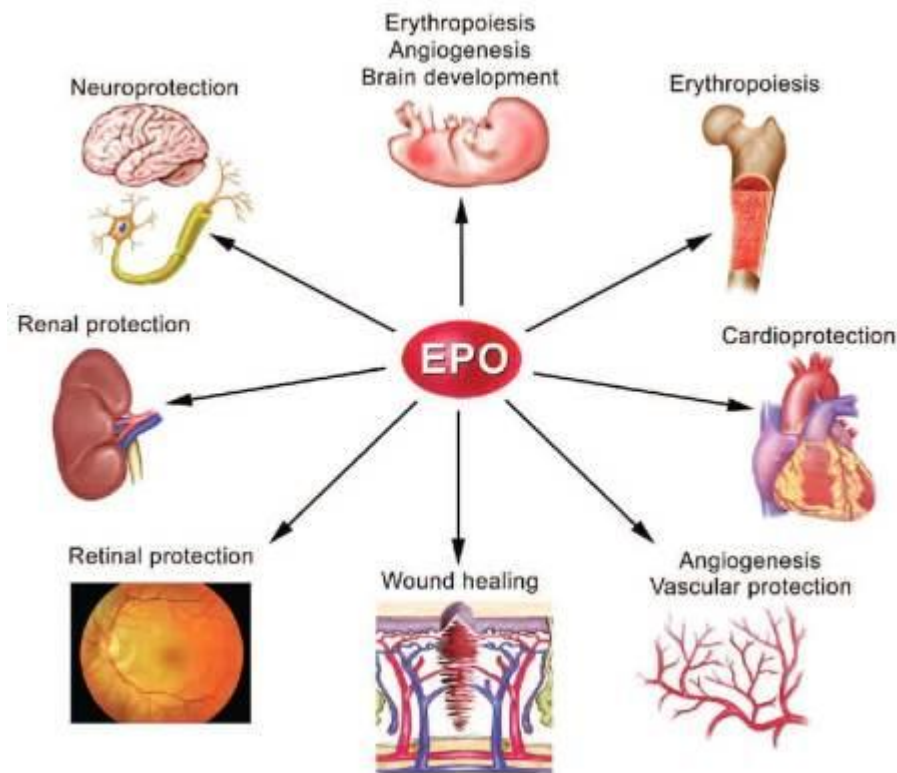


Figura 2. Funções da eritropoietina (RÖLFING, 2014). Neuroproteção; Eritropoiese, angiogênese e desenvolvimento cerebral; Eritropoiese na medula óssea; Cardioproteção; Angiogênese e proteção vascular; Cicatrização de feridas; Proteção da retina; Proteção renal.

4.2 ERITROPOIESE

Os eritrócitos são os elementos figurados sanguíneos responsáveis pelo transporte de O_2 no organismo através da ligação desta molécula com a hemoglobina (Hb). O processo pelo qual as células progenitoras hematopoiéticas produzem eritrócitos é chamado de eritropoiese. Ou seja, a

eritropoiese consiste na produção e liberação de novas células sanguíneas vermelhas pela medula óssea com o intuito de repor os eritrócitos perdidas, uma vez que sua vida útil é consideravelmente curta, de aproximadamente 120 dias (CRIVELLENTI, 2014; MACEDO *et al.*, 2015).

A eritropoiese se inicia na medula óssea a partir de um único tipo de célula denominado como célula-tronco hematopoiética pluripotente, da qual derivam todos os elementos figurados do sangue. Por ação de citocinas, hormônios e fatores de transcrição ocorre a maturação e diferenciação da célula inicial (GUYTON & HALL, 2015; PUGLIESE E PINCINATO, 2012).

A maioria das células-tronco que se multiplicou se diferencia formando outras células (somente uma pequena parte permanece como célula pluripotente). As células em estágio intermediário, por já estarem comprometidas com uma linhagem particular de células, recebem o nome de células-tronco comprometidas. Essas, quando crescem, produzem colônias de tipos específicos de elementos figurados sanguíneos (GUYTON & HALL, 2015).

Essas células progenitoras sofrem ação de diversos fatores de crescimento. Um deles é a Interleucina 3 (IL-3), que promove o crescimento e a reprodução celular, mas não a diferenciação, de quase todos os tipos de células-tronco comprometidas. Desta forma, há também a ação de indutores de diferenciação, como a EPO (GUYTON & HALL, 2015, p. 438). A Figura 3 ilustra a formação dos elementos figurados a partir da célula-tronco hematopoiética pluripotente na medula óssea.

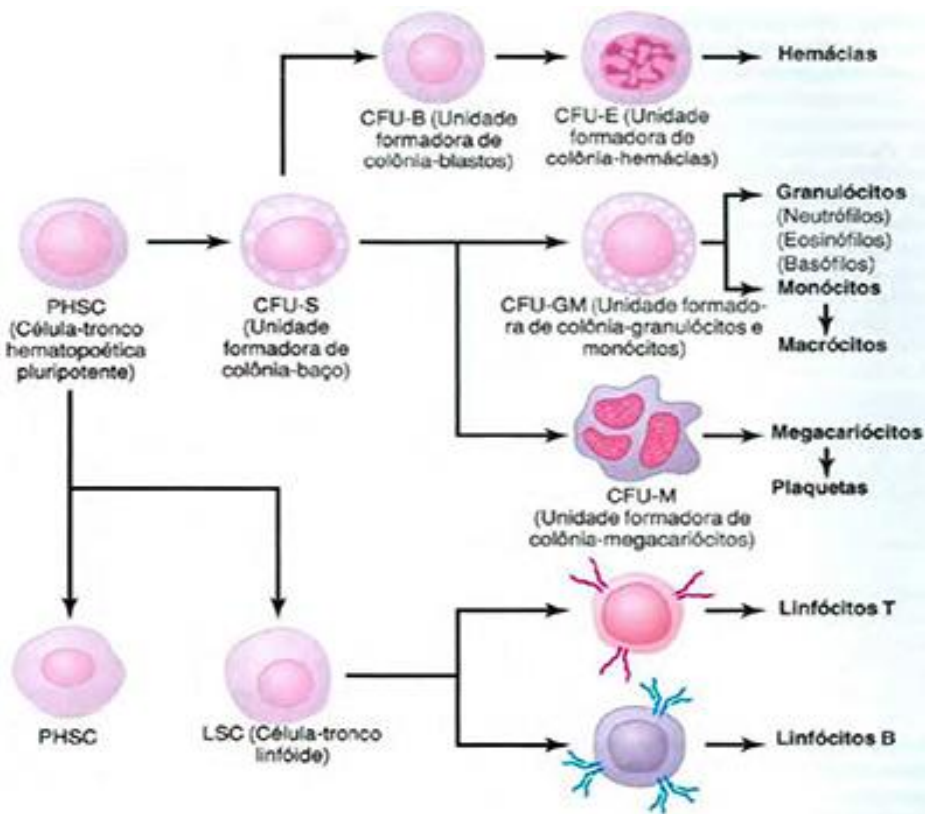


Figura 3. Formação de diferentes elementos figurados sanguíneos a partir da célula-tronco pluripotente na medula óssea (GUYTON & HALL, 2015).

PSHC: Célula-tronco hematopoiética pluripotente; CFU-S: Unidade formadora de colônia – baço; LSC: Célula-tronco linfóide; CFU-B: Unidade formadora de colônia – blastos; CFU-E: Unidade formadora de colônia – eritrócitos; CFU-GM: Unidade formadora de colônia – granulócitos e monócitos; CFU-M: Unidade formadora de colônia - megacariócitos.

A primeira célula formada a partir das células pluripotentes é a unidade formadora de colônias de granulócitos, eritrócitos, megacariócitos e macrófagos (CFU-GEMM). A partir daí, forma-se a primeira célula da linhagem eritróide, a unidade formadora de “explosão” eritrocitária (BFU-E, do inglês *burst-forming unit - erythroid*). Essa necessita da ação da IL-3, fator estimulante de colônias de macrófagos e granulócitos. Origina-se então, a unidade formadora de colônia (CFU-E, do inglês *colony forming unit – erythroid*) dependente de EPO para proliferação e diferenciação. Em seguida, origina-se a primeira célula da série vermelha na medula óssea, o proeritroblasto (PERTB), ainda nucleado (DA SILVA *et al.*, 2016). O PERTB se divide e dá origem ao eritroblasto policromatófilo (ERTBP), que se divide formando o eritroblasto ortocromático (ERTBO). Esse, por sua vez, não se divide, mas sim

sofre um processo de maturação para a fase de reticulócito, glóbulo vermelho imaturo que será liberado na circulação. Após 24h a 48h no sangue o reticulócito irá se diferenciar em eritrócito, célula final do processo da eritropoiese (DA SILVA *et al.*, 2016).

Desta forma, o principal efeito da EPO é estimular a produção de proeritroblastos a partir das células-tronco hematopoiéticas na medula óssea. Uma vez formados os proeritroblastos, a EPO também estimula a diferenciação mais rápida dessas células pelos diferentes estágios eritroblásticos, em relação ao processo normal, acelerando assim a produção de eritrócitos (GUYTON & HALL, 2011).

O efeito biológico da EPO em células hematopoiéticas é mediado pela ligação da mesma aos seus receptores específicos na superfície das células (EPOr). A ligação aos receptores transmembrana resulta na dimerização do EPOr e ativação de diferentes cascatas de reação intracelular (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2015).

4.3 ERITROPOIETINA RECOMBINANTE HUMANA

Algumas doenças ou condições específicas, como por exemplo a insuficiência renal crônica, acarretam na produção insuficiente de EPO e, com isso, se faz necessária a reposição desta glicoproteína. Desta forma, surgiu a eritropoietina recombinante humana (rhEPO), que rapidamente passou a ser utilizada de forma inadequada por alguns atletas, ferindo assim a ética esportiva (SOARES, 2018).

A partir da extração e purificação da urina de pacientes com anemia aplásica e com o auxílio da tecnologia do DNA recombinante, foi possível isolar a região do DNA humano responsável pela codificação da EPO, criando uma cópia molde complementar a essa (cDNA), permitindo, assim, a criação da rhEPO (ALBUQUERQUE, 2009; SILVA, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2013).

Em 1985 se iniciou a comercialização da rhEPO. Atualmente, há diversos fabricantes da rhEPO, cuja molécula é praticamente idêntica a EPO endógena, sendo diferenciada apenas pelas estruturas polissacarídeas presentes nas diversas isoformas (SILVA, 2016). A produção é principalmente

feita a partir de células de ovário de hamster chinês permitindo a obtenção de rhEPO alfa e beta que possuem efeitos fisiológicos idênticos à EPO humana endógena. Pesquisas ainda são realizadas com o objetivo de aumentar a meia-vida da rhEPO e assim melhorar seus efeitos fisiológicos (NASCIMENTO *et al.*, 2013). Na realidade, substâncias que estimulam a eritropoiese vem sendo desenvolvidas desde a aprovação da primeira rhEPO (REICHEL, 2011).

O uso terapêutico inicial da rhEPO foi no tratamento de anemias, permitindo melhora na qualidade de vida e aumento na sobrevida dos pacientes, decrescendo a sensação de fadiga. A utilização médica da rhEPO se estendeu, sendo usada no tratamento de outras doenças. A rhEPO melhora o sistema imune e tem funções neuroprotetoras, uma vez que seus receptores também estão presentes no sistema nervoso central (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

4.4 DOPAGEM NO ESPORTE

A utilização de substâncias químicas para o aprimoramento do desempenho em diversas áreas data de muitos anos antes de Cristo. Por volta de 800 a.C. na Grécia antiga, o esporte passou a ser valorizado, se tornando um costume cultural e religioso. Nessa época, os atletas tinham um grande reconhecimento social, sendo até mesmo considerados como semideuses devido às suas habilidades atléticas. Buscava-se a melhora do desempenho esportivo através de dietas especiais onde se incluía, além de frutas, queijos e carnes, também alguns fungos com propriedades alucinógenas (MARTINÓ, 2017).

Ainda na antiguidade, os romanos faziam o uso de substâncias químicas para melhorar o desempenho não só do homem, mas também de cavalos de corridas. Os gladiadores eram dopados com mistura de estimulantes e álcool com o propósito de retardar a fadiga e tornar as lutas mais longas e violentas para agradar ao público (MARTINÓ, 2017). Entretanto, somente em 1865 foi documentado o primeiro caso de dopagem no esporte, quando nadadores holandeses usaram estimulantes para aprimorar a performance (ALBUQUERQUE, 2009).

A dopagem no esporte é um tema complexo que não se restringe apenas à presença de uma substância proibida nas análises de um atleta. Atualmente, a definição de dopagem é mais ampla do que o simples aumento ilícito do rendimento do atleta. A dopagem é considerada o conjunto de procedimentos que implicam o uso ou tentativa de uso de uma substância ou método proibido, a recusa da colheita de uma amostra após ser notificado para a mesma, o não comparecimento nos testes, a interferência em alguma etapa do processo de controle antidopagem ou o envolvimento no tráfico de substância ou método proibido (SOARES, 2018; WADA, 2018).

A Agência Mundial Antidopagem (WADA, do inglês *World Anti-Doping Agency*) define dopagem como o uso de substâncias ou métodos capazes de aumentar artificialmente o desempenho esportivo e que estejam listados por ela e pelo Comitê Olímpico Internacional (COI). Estes podem ser potencialmente prejudiciais à saúde do atleta ou de seus adversários ou ainda, contrários ao espírito esportivo (SILVA, MARCELINO, GONZALEZ, 2013).

Em 1967, o COI instituiu uma comissão médica para efetuar o controle antidopagem. Isso aconteceu pela primeira vez nos Jogos de Inverno de Grenoble (França) em 1968. Naquela época, a tecnologia disponível permitia apenas a identificação de alguns estimulantes e narcóticos. Somente nas Olimpíadas de Montreal, em 1976, foi possível realizar testes para detectar o uso de anabolizantes (ASSUNÇÃO e SANTOS, 2012).

Em 2003, foi assinada a Declaração de Copenhague aprovando o Código Mundial *Antidoping* que tem como objetivo unificar as políticas de controle antidopagem a nível nacional e internacional. Ela passou a vigorar a partir de 1º de janeiro de 2004. Tal código define a dopagem como a possibilidade de aumentar artificialmente o desempenho, contrariando a saúde do atleta ou ser antagônico aos princípios do jogo limpo, que são nele definidos. Quando duas dessas três situações ocorrem, tem-se então a dopagem (DE ROSE *et al.*, 2004).

Diversas substâncias de uso terapêutico são usadas pelos atletas para obterem ganhos no seu rendimento desportivo. A WADA classifica as substâncias em três categorias:

1. Substâncias sempre proibidas:

- a. Substâncias não aprovadas: estão sempre proibidos os fármacos não incluídos em nenhuma das categorias adiante e sem aprovação vigente por autoridades governamentais regulatórias de saúde para uso terapêutico em humanos;
- b. Agentes anabolizantes: entre eles os esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) e seus metabólitos;
- c. Hormônios peptídicos e fatores de crescimento: nesta categoria estão incluídos a EPO e os demais agentes que interferem no processo de eritropoiese, assim também como o hormônio luteinizante e o hormônio do crescimento;
- d. Agonistas Beta-2
- e. Moduladores hormonais e metabólicos e
- f. Diuréticos e agentes mascarantes.

2. Substâncias proibidas durante a competição:

- a. Estimulantes;
- b. Narcóticos;
- c. Canabinóides e
- d. Glicocorticoides.

3. Substâncias proibidas em alguns esportes:

- a. Betabloqueadores: durante a competição estão proibidos em alguns esportes, como por exemplo o automobilismo, esportes subaquáticos quando há casos de apneia, esportes de acrobacia na neve e água, de tiros, entre outros.

Além das substâncias citadas, a WADA proíbe também, a qualquer momento, alguns métodos de dopagem:

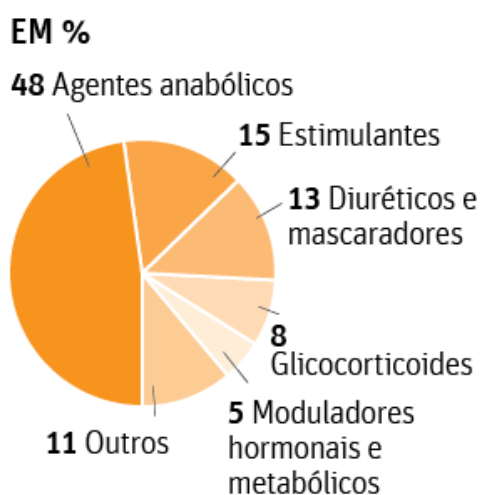
1. Manipulação de sangue e seus componentes: como a dopagem sanguínea por administração ou reintrodução de qualquer quantidade de sangue;
2. Manipulação química ou física: como casos de adição de proteases com o intuito de alterar o resultado do exame de antidopagem;
3. Manipulação genética e de células: como o uso de polímeros de ácidos nucleicos ou análogos, uso de agentes de alteração genética para que se altere as sequências genômicas e a regulação transcricional da expressão genética e o uso de células normais ou geneticamente modificadas.

A Figura 4 apresenta as substâncias mais encontradas nos testes antidopagem realizados pela WADA.

OS TIPOS MAIS COMUNS

Substâncias mais encontradas nos exames

Agentes anabólicos	1479
Estimulantes	474
Diuréticos e mascaradores	389
Glicocorticoides	252
Moduladores hormonais e metabólicos	145
Agonistas de beta-2	122
Hormônios peptídicos e fatores de crescimento	91
Canabinoides	73
Narcóticos	26
Betabloqueadores	25
Manipulação física e química	3
Álcool	0
Doping sanguíneo (transusão)	0



Fonte: Wada (2014)

Figura 4. Substâncias mais encontradas pela Agência Mundial Anti-Dopagem nos exames de atletas (WADA, 2014).

Como observado na Figura 4, os estimulantes são a sétima classe de substâncias mais utilizadas como dopagem. Apesar de serem proibidos são bastante utilizados com o intuito de diminuir fadiga, aumentar a energia e a concentração, permitindo assim a obtenção de um melhor rendimento. Entre eles, encontram-se a rhEPO (SOARES, 2018).

4.4.1 ERITROPOIETINA E DOPAGEM NO ESPORTE

Jokl *et al.* (1969) mostraram, a partir de observações realizadas nos jogos olímpicos de 1968 na Cidade do México, que a capacidade de transporte

de O₂ dos músculos era um dos fatores limitantes para o bom rendimento em exercícios aeróbicos de longa duração (JOKL *et al.*, 1969). De fato, em atividades de longa duração o O₂ é fundamental para a produção de energia para a manutenção da contração muscular. Quando a quantidade de O₂ não é suficiente para a geração de energia, a produção de lactato aumenta, colaborando para a fadiga muscular (MARCONDES *et al.*, 2017).

Desta forma, pelo fato de aumentar os níveis de eritrócitos no sangue, melhorando assim, o transporte de O₂, a EPO passou a ser muito utilizada por atletas com o objetivo de melhorar o desempenho esportivo. Inicialmente, o método mais usado com base nas propriedades hematopoiéticas da EPO foi a transfusão sanguínea, considerada como dopagem a partir de 1985. De acordo com o COI, essa técnica consiste na administração de sangue ou de produtos sanguíneos que contenham eritrócitos a um atleta, por razões outras que não um tratamento médico justificado. Com essa infusão endovenosa de sangue, há a indução eritrocitária e o conseqüente aumento da capacidade de transporte de O₂ (PARDOS *et al.*, 1999).

A transfusão sanguínea pode ser autóloga, quando o atleta recebe uma bolsa com seu próprio sangue anteriormente coletado (autotransfusão) ou homóloga, quando o atleta recebe sangue de outras pessoas com compatibilidade sanguínea (SANTANA, 2017). As eritrócitos congeladas são reconstituídas com solução salina e transferidas entre um e sete dias antes da competição (PARDOS *et al.*, 1999). No caso da transfusão autóloga existe o aumento do hematócrito (Ht) por dois mecanismos. Primeiramente devido a retirada de um certo volume de sangue, estimulando a síntese natural de EPO e a conseqüente produção de novos eritrócitos. Em seguida, o Ht é novamente elevado com a infusão de eritrócitos previamente armazenados (SAWKA *et al.*, 1996).

A dopagem sanguínea realizada por transfusão de sangue exige metodologias avançadas, pois é um método invasivo e que necessita a correta conservação do sangue podendo ser acompanhada de efeitos adversos (SALAMIN *et al.*, 2017). Em transfusões homólogas pode ocorrer contaminação por hepatite B e C e pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), além de outros riscos caso haja incompatibilidade de tipo sanguíneo. Já nas transfusões autólogas os riscos estão principalmente relacionados a erros de etiquetagem e

mau manuseio dos derivados sanguíneos, havendo perigo também de infecções bacterianas (SAWKA *et al.*, 1996).

Outro recurso para o estímulo da produção de EPO endógena é a realização do treinamento em altitude ou a utilização de câmara hipobárica que simula a condição de alta altitude. Esta pode ser ajustada em função do grau de hipóxia que se deseja criar. Com isso, o indivíduo exposto à câmara fica submetido a uma hipóxia tissular gerando maior síntese de EPO, com consequente alteração dos valores de Ht (CRUZ, 2006) e os benefícios decorrentes.

Atualmente, a alteração da composição sanguínea por atletas é principalmente realizada através da utilização da rhEPO, que é clinicamente indistinguível da endógena e pode ser administrada por via intravenosa e subcutânea para obtenção dos resultados já descritos: aumento nos níveis de Hb e Ht, melhorando assim a capacidade do sangue em transportar O₂ aos músculos ativos, permitindo o aumento no rendimento esportivo (ARTIOLI, 2007) e, em consequência, vantagem em relação a outros atletas. Isso é particularmente interessante para os exercícios aeróbicos, como o ciclismo, esqui de fundo, corridas de longa distância, entre outros (BENTO *et al.*, 2003).

Além de suas propriedades hemodinâmicas, estudos indicam que a EPO pode participar no desenvolvimento e regeneração dos músculos estriados esqueléticos (OGILVIE *et al.*, 2000; ROTTER *et al.*, 2008). Rotter *et al.* (2008) mostraram que a EPO melhora a recuperação muscular e a capacidade de contração após lesão, agindo na proliferação celular e microcirculação (ROTTER *et al.*, 2008). Por outro lado, Hagström *et al.* (2010) demonstraram que a EPO não é fundamental para o desenvolvimento muscular e que ela não modifica a adaptação dos músculos estriados esqueléticos à hipóxia (HAGSTRÖM *et al.*, 2010).

Como a EPO eleva a concentração de eritrócitos, a viscosidade do sangue aumenta e, com isso, ocorre elevação da pressão arterial, sobrecarregando o coração, podendo também ocorrer trombos. Seu uso a longo prazo pode desencadear doenças cardíacas e aplasia das células vermelhas (PARDOS *et al.*, 1999; SURIOL, 2018). Ademais, há estudos que demonstram uma relação do uso de rhEPO com o desencadeamento de células tumorais (SURIOL, 2018).

Desde o início da utilização de rhEPO como dopagem, a WADA e o COI procuram a melhor forma de detecção em atletas. As semelhanças na estrutura molecular e no metabolismo da EPO e sua forma recombinante facilita seu uso por parte de alguns atletas. Em 2000, Lasne e Ceaurriz propuseram um modelo de detecção de múltiplos estágios, definido como o padrão-ouro que detecta na urina baixas concentrações de rhEPO. Diferenças nos pontos isoelétricos entre a molécula natural e a recombinante permitiram atribuir a EPO excretada sua origem (COSTA e SILVA JÚNIOR, 2011).

4.5 TERAPIA GÊNICA E A DOPAGEM GENÉTICA

A terapia gênica pode ser definida como o conjunto de métodos permitindo a inserção de genes sadios em um organismo para substituir, manipular ou suplementar genes não funcionais ou inativos. Para isso é utilizado técnicas de DNA recombinante (LINDEN, 2010). Ou seja, a terapia gênica consiste na introdução de genes responsáveis por produtos terapêuticos (genes normais) ou de células geneticamente modificadas com a finalidade de bloquear a atividade de genes prejudiciais, ativar mecanismos de defesa imunológica ou ainda produzir moléculas de interesse terapêutico (RAMIREZ e RIBEIRO, 2005). A inserção dos genes pode ser realizada através da transferência *in vivo* ou *ex vivo*. No caso da primeira, sequências de ácidos nucléicos são injetadas diretamente no músculo ou na medula óssea. Na transferência *ex vivo*, os genes são transferidos a vetores e posteriormente são introduzidos no indivíduo (MENCK E VENTURA, 2007).

Somente em 2003 a WADA passou a definir a dopagem genética como sendo a utilização não terapêutica de genes, elementos genéticos e/ou células com capacidade de melhorar o desempenho esportivo (WADA, 2016). Tal procedimento tem como objetivo aumentar ou reduzir a expressão de uma ou mais proteínas, visando aumentar o desempenho atlético. Também pode ser utilizado em lesões do aparelho locomotor, visando acelerar a recuperação do tecido muscular esquelético, tendinoso, ósseo e cartilaginoso (BUENO JÚNIOR e PEREIRA, 2010).

Por apresentar um estado pós-mitótico das células, garantindo um maior período de expressão dos genes exógenos, a musculatura esquelética é um excelente alvo para a terapia gênica e dopagem genética. O tecido muscular é de fácil acesso e muito vascularizado, com isso, um gene ao ser modificado ou inserido, produz resultados diretos ou indiretos na performance física (DIAS, 2011).

Os principais genes alvo da dopagem genética são aqueles que proporcionam o aumento da captação de O₂ com otimização do metabolismo energético e, em consequência, o rápido ganho de massa magra. Os possíveis alvo são os genes do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1, do inglês *Insulin-like growth factor-1*, cromossomo 12q22-q23), do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelial growth factor*, cromossomo 6p12), de bloqueadores de miostatina (GDF-8, do inglês *growth differentiation factor 8*, cromossomo 2q32.2) e do hormônio de crescimento (GH, do inglês, *growth factor*, cromossomo 17q24.2) e da EPO (cromossomo 7q22) (QUEIROZ e ALVES, 2012)

O fator de crescimento semelhante à insulina é um fator de crescimento peptídico que tem atividade relacionada ao metabolismo, proliferação, crescimento e diferenciação celular. É produzido na maioria dos órgãos e dos tecidos do organismo, sempre que preciso, já que não há armazenamento. Alguns estudos mostraram que a super expressão de IGF-1 pode potencializar as respostas musculares a treinamentos físicos, em especial ao treinamento de força, além de já ter sido demonstrado que altas concentrações estão relacionadas também com o aumento da lubrificação das articulações. Com isso acredita-se que o mesmo pode ser utilizado tanto para o desempenho esportivo, como para o tratamento de doenças musculares graves, devido às alterações genéticas que reduzem a produção de distrofina, proteína de membrana relacionada a diversas doenças que faz conexão com o citoesqueleto de actina e a membrana celular, protegendo as fibras musculares de lesões causadas pela força que elas empregam durante os movimentos (PORTO e PORTO, 2011; MARTINELLI JUNIOR *et al.*, 2008). Contudo, foi demonstrado também que altas concentrações desse podem acarretar em efeitos colaterais como hipertrofia miocárdica e carcinogênese (BUENO JÚNIOR E PEREIRA, 2010).

O VEGF pode ser usado para ajudar no crescimento de novos vasos sanguíneos. E se usado por atletas, pode haver a melhora na produção dos vasos sanguíneos, resultando em uma excelente fonte de O₂ para os tecidos, principalmente coração, músculos e pulmões (QUEIROZ e ALVES, 2012).

A miostatina atua como regulador negativo e evita o crescimento descontrolado do músculo esquelético. Sabendo disso, a dopagem genética visa aumentar a produção dos bloqueadores dessa miostatina, o que leva a um aumento da massa muscular. Entretanto, esse aumento pode acarretar em uma sobrecarga nos tendões, e esse rápido aumento da massa magra pode promover patologias como por exemplo ataques cardíacos (QUEIROZ E ALVES, 2012).

Apesar de não haver métodos de terapia gênica aprovados clinicamente com o gene da EPO, ele é considerado um dos principais genes alvo para a dopagem genética (REICHEL, 2011). A transfecção do gene da EPO no músculo estriado esquelético exerce um efeito indireto sobre a performance do atleta. Nesse caso o maquinário das células musculares é utilizado apenas para a transcrição do gene e tradução da proteína EPO, aumentando assim sua síntese (DIAS, 2011).

Embora a terapia gênica tenha surgido com objetivos terapêuticos, ela vem cada vez mais sendo usada como instrumento de dopagem visando o aumento do desempenho nos esportes de alto rendimento a qualquer custo. Desta forma, os métodos seguros muitas vezes ficam em segundo plano (DIAS, 2011).

4.6 MÉTODOS DE DETECÇÃO DA DOPAGEM GENÉTICA COM ERITROPOIETINA

Pesquisas realizadas com modelos animais conseguiram transferir uma cópia adicional do gene da EPO, sugerindo que esse tipo de dopagem é, de fato, possível (ARTIOLI *et al.*, 2007). Na realidade, os métodos de terapia gênica da EPO estão sendo desenvolvidos há vários anos, entretanto, nenhum deles está clinicamente aprovado, mas acredita-se que vários atletas estão

fazendo uso (REICHEL, 2011) apesar dos perigos decorrentes. É possível que super expressão da EPO tenha efeitos prejudiciais importantes em pessoas saudáveis. Foi observado anemia grave em alguns animais devido ao aparecimento de resposta autoimune após transferência do gene extra (ARTIOLI *et al.*, 2007).

Acredita-se que o *Repoxygen*, método de terapia genética que utiliza um vetor carregado com o gene da EPO e controlado por elemento responsivo à hipóxia, em desenvolvimento pela Oxford BioMedica há vários anos (REICHEL, 2011), esteja sendo usado com a finalidade de aumentar o desempenho físico em atletas. Foi sugerido a existência de comércio não autorizado para circulação do método no meio esportivo. Estudos vem sendo realizados visando a detecção da dopagem com o gene da EPO. No entanto, nenhum teste foi implementado pela WADA, o que resulta na falta de evidências caso este doping genético esteja realmente sendo utilizado (DIAS, 2011).

Tradicionalmente, o protocolo seguido pela WADA para detecção direta das substâncias proibidas é a coleta de duas amostras de cada atleta que são identificadas com código para preservar a identidade do esportista e encaminhadas ao laboratório. Uma das amostras é analisada e a outra armazenada. Se o resultado da primeira amostra for positivo, o atleta pode pedir uma contraprova (SANTANA, 2017).

Como o tempo em que certas substâncias permanecem detectáveis no organismo (meia-vida) é muito curto e como algumas substâncias proibidas são semelhantes às endógenas, a detecção direta costuma ser difícil. Esse é o caso das transfusões autólogas. Para tais situações, são utilizados métodos indiretos de detecção. Estes podem ser realizados através de biomarcadores específicos que vão procurar alterações nas moléculas alvo indicando prática de dopagem (SOARES, 2018).

A dopagem genética não é fácil de ser detectada. Não há testes eficazes que comprovem sua utilização, uma vez que as proteínas produzidas pela transferência de genes são, teoricamente, indistinguíveis das endógenas e, em muitos casos, os genes e seus produtos permanecem dentro de um tecido (como no músculo) tornando sua identificação complexa a partir do sangue e da urina (MAZZEO E VOLPE, 2016). O desenvolvimento de técnicas para a detecção desse tipo de dopagem envolve muitos critérios éticos e econômicos.

Muitas vezes as técnicas são invasivas, como por exemplo, a realização de biópsia (MAZZEO E VOLPE, 2016). O trabalho de Reichel (2011) apresenta os testes mais recentes para o reconhecimento da dopagem com EPO.

Com o desenvolvimento científico foram propostas alternativas à biópsia, como por exemplo o uso de um microchip capaz de monitorar milhares de genes; o monitoramento da impressão digital da proteína, onde qualquer alteração em tal informação pode indicar dopagem (MAZZEO E VOLPE, 2016); o uso da espectrometria de massa e até a detecção direta do transgene em amostra sanguínea (REICHEL, 2011).

Outro método utilizado para a detecção da dopagem genética e a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e suas variações. A PCR permite a amplificação de ácidos nucleicos alvo a partir de amostras com quantidades muito pequenas deste material (MCARDLE *et al.*, 2016). Para a realização da técnica é necessário um par de iniciadores que irão se ligar à região do gene que se deseja amplificar. Graças a ação de polimerases (enzimas que catalisam a síntese de novos filamentos de DNA a partir de uma fita molde) bases são adicionadas, formando a nova fita (GRIFFITHS *et al.*, 2008). A PCR permite a detecção ácidos nucleicos (DNA ou RNA) incorporados aos vetores virais utilizados na dopagem gênica (BUENO JUNIOR e PEREIRA, 2010).

A eletroforese em gel é utilizada de maneira complementar à PCR convencional. Esta técnica separa moléculas de DNA em função do seu tamanho durante a aplicação de um campo elétrico. As moléculas menores migram mais rapidamente possibilitando a separação por tamanho ou peso molecular (MAGALHÃES *et al.*, 2005).

Um método de detecção indireto que a WADA tem utilizado é o Programa do Passaporte Biológico que tem como objetivo traçar um perfil hematológico do atleta e suas variações. Por exemplo, evidências de utilização de EPO podem ser encontradas em exame sanguíneo. Assim, se um hemograma for feito repetidamente (pelo menos quatro vezes) durante um ano, os resultados indicarão se determinado atleta utiliza a EPO. Sinais de utilização de certas substâncias podem ser verificados desta forma (SILVEIRA E RIGO, 2015).

4.7 RISCOS DA DOPAGEM GENÉTICA COM ERITROPOIETINA

Os laboratórios de biologia molecular e genética realizam estudos clínicos utilizando a terapia gênica com rigor para minimizar os riscos relacionados à manipulação de genes. Sua utilização em seres humanos requer aprovação e controle de órgãos regulamentadores de maneira a diminuir os riscos de morte e o desenvolvimento de doenças associadas aos vetores e ao gene exógeno (DIAS, 2011).

O problema da dopagem genética é que esta não é regulamentada, aumentando os perigos com sua utilização. Eventualmente pode haver recuperação da carga viral e de suas habilidades de infecção (quando usado vetores virais). O sistema imunológico pode considerar o vetor como um agressor ao organismo provocando uma estimulação excessiva da resposta do organismo ao mesmo. Além disso, devem ser considerados também os riscos que podem ser causados não só pelo vetor, mas também pelo gene inserido que pode ser super expresso (CARDOSO, 2018). No caso da EPO, o excesso pode comprometer o sistema cardiovascular.

A EPO origina diversos problemas de saúde quando utilizada por indivíduos saudáveis. A alta concentração de eritrócitos aumenta a viscosidade do sangue sobrecarregando o coração, podendo ocasionar trombozes e aplasia eritróide (PARDOS *et al.*, 1999; SURIOL, 2018).

Estudos têm demonstrado que a EPO é um fator de risco cancerígeno. O receptor humano existente para a produção de eritrócitos também se encontra em células cancerígenas. Sendo assim, quanto maior a quantidade de EPO produzida, maior será a produção de eritrócitos, entretanto, se houver células neoplásicas, as mesmas evoluirão rapidamente (SANTANA, 2017; CARDOSO, 2018).

Apesar dos benefícios da terapia gênica, seu uso como dopagem já é reconhecido e proibido pela WADA, pois além de colocar em risco a saúde do atleta, vai contra os princípios de igualdade entre os competidores. Para minimizar os riscos associados ao aumento da produção da EPO é necessária tecnologia apropriada para a detecção não só do uso de seus análogos recombinantes, mas também da dopagem genética.

5. CONCLUSÃO

Com base no trabalho apresentado, podemos observar que a EPO vem sendo muito estudado desde a descoberta do seu uso para a melhora da performance esportiva. Acredita-se que a terapia gênica já vem sendo utilizada por atletas de alta performance para potencializar seu desempenho. Este assunto merece ser discutido e pesquisado principalmente pela dificuldade de detecção da dopagem genética pelos testes convencionais. Por essa razão, a WADA estimula e apoia estudos focados no desenvolvimento de novos métodos de detecção de dopagem genética (ORTOLANI, 2012). Espera-se que em breve haja uma técnica padrão-ouro antidopagem permitindo a punição dos atletas implicados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, N. M. T. P. de. **A utilização da rhEPO no doping – Estudos dos efeitos cardiovasculares e metabólicos e ratos submetidos a exercício físico.** Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra para obtenção do grau de Mestre em Medicina Legal e Ciências Forenses. Universidade de Coimbra. 2009.

ARGÜELLES, C. F.; ZAMORA, E. H. **Dopaje genético: transferencia génica y su posible detección molecular.** Departamento de Farmacología del Deporte y Servicio de Genética, Instituto Nacional de Rehabilitación. Gaceta Médica de México, V. 143, n. 2, 2007.

ARTIOLI, G. G.; HIRATA, R. D. C.; JUNIOR, Antonio Helbert Lancha. **Terapia Gênica, doping genético e esporte: fundamentação e implicações para o futuro.** Rev. Bras. Med. Esporte, Vol. 13, N. 5, São Paulo, Set/Out, 2007.

ASSUNÇÃO, L. de; SANTOS, J. H. dos. **Controle antidopagem no Brasil: monitoramento e prática de dopagem.** Pensar a Prática, Goiânia, v. 15, n.3, p. 271-550, jul/set. 2012.

BAIROS, A. V. de; PREVEDELLO, A. A.; MORAES, L. de los S.. **Doping genético e possíveis metodologias de detecção.** Rev. Bras. Cienc. Esporte. Vol. 33, N. 4, p. 1055-1069, Porto Alegre, Oct/Dec, 2011.

BENTO, R. M. de A.; DAMASCENO, L. M. P.; NETO, F. R. de A.. **Eritropoietina humana recombinante no esporte: uma revisão.** Rev Bras Med Esporte - Vol. 9, Nº 3 – Mai/Jun, 2003

BUENO JUNIOR, C. R. B.; PEREIRA, M. G.. **Biologia molecular como ferramenta no esporte de alto rendimento: possibilidades e perspectivas.** Rev. Bras. Cienc. Esporte, Campinas, V.31, N. 3, p. 231-249, Maio, 2010.

CARDOSO, L. G.. **Terapia gênica e sua influência no doping genético.** Trabalho apresentado como requisito para a aprovação na disciplina de Iniciação à Pesquisa Científica da Pós-graduação de Análises Clínicas da Fundação Carmelitana Mário Palmério – FUCAMP. Monte Carmelo, 2018

COURA, R. dos S.; NARDI, N. B.. **A role adeno-associated viral vectors in gene therapy.** Genet. Mol. Vol. 31, No 1, São Paulo, 2008.

COSTA, D. D.; SILVA JÚNIOR, E. N. M. da. **Riscos da utilização de eritropoietina recombinante humana: um alerta ao esporte.** Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo, como requisito obrigatório para conclusão do curso de bacharel em Farmácia. 2011

CRIVELLENTI, S. B.. **Fatores indutores e supressores da eritropoiese em caninos doentes renais crônicos.** Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Clínica Médica Veterinária. 2014

CRUZ, A. M. da. **Resistência aeróbia e eritropoietina.** Goiânia, v. 33, n.7/8, p. 553-572, jul./ago. 2006

DE ROSE, E. H.; NETO, F. R. de A.; MOREAU, R. L. de M.; CASTRO, R. R. T.. **Controle Antidoping no Brasil: resultados do ano de 2003 e atividades de prevenção.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte – Vol. 10, nº 4 – Jul/Ago, 2004.

DIAS, R. G.. **Genética, performance física humana e doping genético: o senso comum versus a realidade científica.** Rev. Bras. Med. Esporte vol. 17 no.1, São Paulo Jan./Feb. 2011.

EIBEL, B.; RODRIGUES, C. G.; GIUSTI, I. I.; NESRALLA, I. A.; PRATES, P. R. L.; SANT'ANNA, R. T.; NARDI, N. B.; KALIL, R. A. K.. **Terapia gênica para**

cardiopatia isquêmica: revisão de ensaios clínicos. Rev Bras Cir Cardiovasc vol.26 no.4 São José do Rio Preto Oct./Dec. 2011.

EKBLOM, B., GOLDBARG, A. N.; GULLBRING, B.. **Response to exercise after blood loss and reinfusion.** Journal of Applied Physiology. Vol. 33, No. 2, 175-80, August, 1972.

FERNANDES, A. M. P.. **Eritropoiese e inflamação em doentes com insuficiência renal e/ou com Diabetes mellitus tipo 2.** Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Católica Portuguesa para obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública - Especialidade em Hematologia e Imunohemoterapia. 2011

GONÇALVES, G. A. R.; PAIVA, R. de M. A.. **Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas.** Einstein (São Paulo) vol.15 no.3 São Paulo July/Sept. 2017.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica.** Elsevier Editora Ltda. 12ª edição - 2011.

HAGSTRÖM, L.; AGBULUT, O.; EL-HASNAOUI-SAADANI, R.; MARCHANT, D.; FAVRET, F.; RICHALET, J.P.; BEAUDRY, M.; LAUNAY, T. **EPO is relevant neither for microvascular formation nor for the new formation and maintenance of mice skeletal muscle fibres in both normoxia and hypoxia.** J Biomed Biotechnol. 1-14. 2010.

JOKL, E.; JOKL, P.; SEATON, D. C.. **Effect of Altitude upon 1968 Olympic Games Running Performances.** Int. J. Biometeor., vol. 13, number 3 and 4, pp. 309-311. 1969

KORUGUI, W. J.; KORUGUI, A. K.; GONDO, S. da S.. **Terapia Gênica: gene suicida.** CESUMAR, Maringá, 2005.

LINDEN, R.. **Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será.** Estudos Avançados, vol.24, no.70, São Paulo, 2010.

LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia - Propedêutica e Clínica.** 4ª edição - Rio de Janeiro - Editora Guanabara Koogan S.A. 2006.

MACEDO, L. B. de; PIMENTEL, M. M. L.; SANTOS, F. A. dos; DIAS, R. V. da C.. **A eritropoiese e o eritrograma: Uma Revisão.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v.9, n.4, p. 716-732, 2015

MAGALHÃES, V. D.; FERREIRA, J. C.; BARELLI, C.; DARINI, A. L. C.. **Eletroforese em campo pulsante em bacteriologia – uma revisão técnica.** Ver. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) vol. 64, nº 2, São Paulo, 2005

MARCONDE, A. J. B.; DIAS, B. M.; MATOS, H. de O. S.; MIRANDA, I. F.; BRAUN, K. de M.; DOS SANTOS, M. L.; OLIVEIRA, W. C. S.; FALEIRO, A. L.; CESAR, J. J.. **Doping pelo uso da eritropoietina.** Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR - Vol.19, n.1, p.107-111 - Jun – Ago 2017

MARIEB, E. N.. **Human Anatomy & Physiology.** Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, Sixth Edition, 2004

MARTINELLI JÚNIOR, C. E.; CUSTÓDIO, R. J.; AGUIAR-OLIVEIRA, M. H.. **Fisiologia do Eixo GH-Sistema IGF.** Arq Bras Endocrinol Metab, 52/5, 2008

MARTINÓ, T. M.. **Luta contra a dopagem no desporto: o impacto de programas educativos antidopagem das Federações Esportivas.** Dissertação de Mestrado em Direção e Gestão Esportiva. Escola de Ciências e Tecnologia. Departamento de Desporto e Saúde. Universidade de Évora. 2017

MAZZEO, F.; VOLPE, R. A.. **From gene doping to athlete biological passport.** Sport Science 9, Issue 2: 97-103, 2016

MCARLED, W. D.; KATCHA, F. I.; KATCH, V. L.. **Fisiologia do Exercício – Nutrição, Energia e Desempenho Humano**. Editora Guanabara Koogan, Ed. 8, Rio de Janeiro, 2016.

MENCK, C. F. M.; VENTURA, A. M.. **Manipulando genes em busca de cura: o futuro da terapia gênica**. REVISTA USP, São Paulo, n.75, p. 50-61, setembro/novembro, 2007

NARDI, N. B.; TEIXEIRA, L. A. K.; SILVA, Eduardo Filipe Ávila da. **Terapia gênica**. Ciência e Saúde Coletiva, São Paulo, V. 7, N. 1, 2002

NASCIMENTO, M. C. do; ABREU, C. L. do C.; COSTA, R. N.; MOURA, W. C. de; DELGADO, I. F.. **A eritropoietina humana recombinante: uma breve revisão com ênfase no processo de controle da qualidade**. Universitas: Ciências da Saúde, Brasília, v. 11, n. 1, p. 43-55, jan./jun. 2013

OGILVIE, M.; YU, X.; NICOLAS-METRAL, V.; PULIDO, S.M.; LIU, C.; RUEGG, U.T.; NOGUCHI, C.T. **Erythropoietin stimulates proliferation and interferes with differentiation of myoblasts**. J Biol Chem. 275(50):39754-61. 2000

OLIVEIRA JUNIOR, W. V. de; SABINO, A. de P.; FIGUEIREDO, R. C.; RIOS, D. R. A.. **Inflamação e má resposta ao uso de eritropoietina na doença renal crônica**. Bras Nefrol; 37 (2) : 255-263, 2015

ORTOLANI, J. S.. **Doping no esporte: uso de eritropoietina, propriedades, efeitos e detecção**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutico-Bioquímico. 2012

PEREIRA, D. A. de B.; QUEIROZ, P. R. M.. **Eritropoietina humana recombinante – Melhora ou prejudica a expectativa de vida dos pacientes com câncer?** Ensaios e Cinência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. v.16 – n.6 – p.199-211, 2012

PARDOS, C. L.; GALLEGO, V. P.; MAYOR, M. J. de R.; MARTÍN, A. V.. **Doping sanguíneo e eritropoietina.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte – Vol. 5, nº 1 – Jan/Fev, 1999.

PORTO, C. C.; PORTO, A. L.. **Semiologia Médica.** Ed. Guanabara Koogan. Ed. 6. p. 205, 1075, 1163, Rio de Janeiro, 2011

PUGLIESE, L.; PINCINATO, E. de C.. **Hematologia – Eritropoese.** Editora DCL – Difusão Cultural do Livro. São Paulo, 2012.

QUEIROZ, P. R. M.; ALVES, L. S.. **Doping genético. Principais genes alvo, riscos associados e possíveis métodos de detecção.** Ensaio e Ciências. Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. Vol. 16, nº1, Ano 2012

RAMIREZ, A.; RIBEIRO, Á.. **Doping genético e esporte.** Rev. Metropolitana de Cienc. do Movimento Humano, V. 6, p. 9-20, 2005.

REICHEL, C. **Recent developments in doping testing for erythropoietin.** Anal Bioanal Chem. 401(2):463-81, 2011.

RIBEIRO, T. F.. **Utilização Ilícita de Fármacos no Desporto.** Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Porto, 2015

RIKSEN, N.P.; HAUSENLOY, D.J.; YELLON, D.M. **Erythropoietin: ready for prime-time cardioprotection.** Trends Pharmacol Sci., 29(5): 258-267 – 2008.

ROCHA, T. R. da; BRAIBANTE, M. E. F.. **A Química presente nos avanços históricos, científicos e tecnológicos dos esportes.** Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM, Ciência e Natura, Santa Maria v.38 n.2, Mai.- Ago. p. 1133–1145, 2012

RÖLFING. **The effect of erythropoietin on bone.** Acta Orthopaedica, 85:sup353, 1-29. 2014

SALAMIN, O.; KUURANNE, T.; SAUGY, M.; LEUENBERGER, N.. **Erythropoietin as a performance-enhancing drug: Its mechanistic basis, detection, and potential adverse effects,** *Molecular and Cellular Endocrinology* (2017).

SANTANA, B. H.. **ERITROPOIETINA: FERRAMENTA PARA O DOPING.** Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia. 2017

SAWKA, M. N.; JOYNER, M. J.; MILES D. S.; ROBERTSON, R. J.; SPRIET L. L.; YOUNG, Andrew J. **American College of Sports Medicine. Position Stand on the Use of Blood Doping as an Ergogenic Aid.** Med Sci Sports Exerc; 28 (3) : i-viii, 1996

SILVA, M. L.; RUBIO, K.. **Superação no esporte: limites individuais ou sociais?** Revista Portuguesa de Ciências do Desporto, vol. 3, nº 3 [69–76], 2003

DA SILVA, P. H.; ALVES, H. B.; COMAR, S. R.; HENNEBERG, R.; MERLIN, J. C.; STINGHEN, S. T.. **Hematologia Laboratorial: Teoria e Procedimentos.** Editora Artmed, Edição Digital, 1ª ed. 2016

SILVEIRA, V. T.; RIGO, L. C.. **O Programa Passaporte Biológico: considerações sobre o governo dos atletas.** Ed. Movimento, Porto Alegre, v. 21, n. 2., p. 495-506, abr./jun. de 2015.

SOARES, D. J. R.. **A dopagem no desporto – formas, biomarcadores e limitações no controlo analítico.** Relatórios de Estágio e Monografia. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Universidade de Coimbra. 2018

SURIOL, I. M.. **Erythropoietin gene doping**. Final degree project. Facultat de Farmacia. Universitat de Barcelona, 2018.

Sítio eletrônico da **Associação Brasileira de Controle de Dopagem (ABCD)**. Acessado em 21 de abril de 2018.

Sítio eletrônico da **WADA (World Anti-Doping Agency)**. Acessado em 21 de abril de 2018.

YAMADA, A. K.; VERLANGIA, R.; JUNIOR, C. R. B.. **Myostatin: genetic variants, therapy and gene doping**. Braz. J. Pharm. Sci. Vol. 48, N.3, São Paulo, July/September, 2012.